

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)



WO 9605219A1

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07K 5/078, 7/06, A61K 38/05, 38/08, C07K 5/06	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 96/05219
		(43) Date de publication internationale: 22 février 1996 (22.02.96)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR94/01006</p> <p>(22) Date de dépôt international: 12 août 1994 (12.08.94)</p> <p>(71) Déposant: RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond-Aron, F-92160 Antony (FR).</p> <p>(72) Inventeurs: ANGER, Pascal; 18, rue de l'Eglise, F-91370 Verrières-le-Buisson (FR). BONNAVAUD, Bertrand; Bâtiment 1/322, Clos Saint-Vigor, F-78220 Viroflay (FR). CALLET, Alain; 1, avenue de la République, F-94130 Orly (FR). LEFEVRE, Patrick; 1, rue Faic-Félix, F-94300 Vincennes (FR).</p> <p>(74) Mandataire: LOBJOIS, Françoise; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond-Aron, F-92165 Antony Cédex (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: BR, CN, brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>

(54) Title: PURIFIED FORM OF STREPTOGRAMINES, PREPARATION THEREOF AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING IT

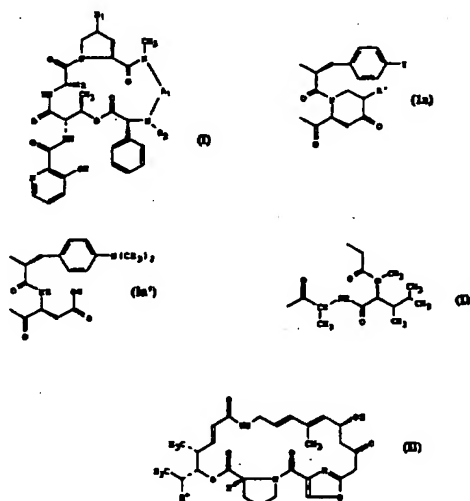
(54) Titre: FORME PURIFIEE DE STREPTOGRAMINES, SA PREPARATION ET LES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES QUI LA CONTIENNENT

(57) Abstract

Purified form of streptogramins comprised of the association of one or a plurality of components of the group B of streptogramins having general formula (I), wherein A_1 is a radical having general formula (1a) or (1a') wherein R' is H or OH and Y is H, a methylamino radical or a dimethylamino radical, R is an ethyl radical or when R' is H, R can also be $-CH_3$, and R_1 and R_2 are H, or A_1 is a radical having formula (1b), R is an isobutyl radical and R_1 is OH and R_2 is $-CH_3$, and one or a plurality of minor components of the group A of streptogramins having general formula (II) wherein R'' is H or a methyl or ethyl radical, in the form of a cocrystallite, coprecipitate or physical mixture of powders.

(57) Abrégé

Forme purifiée de streptogramines constituée d'une association d'une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines, de formule générale (I), dans laquelle A_1 est un radical de formule générale (1a) ou (1a') pour lequel R' est H ou OH et Y est H, un radical méthylamino ou un radical diméthylamino, R est un radical éthyle ou lorsque R' est H, R peut également représenter $-CH_3$, et R_1 et R_2 sont H, ou bien, A_1 est un radical de formule (1b), R est un radical isobutyle, et R_1 est OH et R_2 est $-CH_3$, et d'une ou plusieurs composantes minoritaires du groupe A des streptogramines, de formule générale (II) dans laquelle R'' est H ou un radical méthyle ou éthyle, à l'état de cocrystallite, de coprecipité ou de mélange physique des poudres.



UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brésil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

FORME PURIFIEE DE STREPTOGRAMINES. SA PREPARATION ET LES COMPOSITIONS
PHARMACEUTIQUES QUI LA CONTIENNENT

La présente invention concerne une forme purifiée de streptogramines comprenant au moins une composante du groupe B des streptogramines associée à au moins une composante "minoritaire" du groupe A définie ci-après par la formule générale (II).

Parmi les streptogramines connues, la pristinamycine (RP 7293), antibactérien d'origine naturelle produit par *Streptomyces pristinaespiralis* a été isolée pour la première fois en 1955. La pristinamycine commercialisée sous le nom de Pyostacine[®] est constituée principalement de pristinamycine IA et de pristinamycine IIA.

Un autre antibactérien de la classe des streptogramines : la virginiamycine, a été préparé à partir de *Streptomyces virginiae*, ATCC 13161 [Antibiotics and Chemotherapy, 5, 632 (1955)]. La virginiamycine (Staphylomycine[®]) est constituée principalement de facteur S et de facteur M₁.

Dans le brevet US 3 325 359 ont été décrites des compositions pharmaceutiques comprenant des substances antibiotiques constituant l'antibiotique 899 : facteur S et facteur M₁.

Dans la demande de brevet FR 2 619 008 a été décrite l'utilisation de composantes du groupe A et du groupe B pour le traitement de l'acnée.

Les antibactériens d'origine naturelle, de la classe des streptogramines sont constitués du mélange de 2 groupes de composants : composantes du groupe B et composantes du groupe A, chaque groupe ayant une activité antibactérienne propre. Il a été démontré que l'association formée par les 2 groupes des composantes provoque une synergie d'action qui résulte dans une activité bactériostatique et bactéricide accrue et dans l'élargissement du spectre d'activité.

Dans Streptogramine als Modellsysteme für den Kationentransport durch Membranen, Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Georg-August Universität

zu Göttingen, Göttingen 1979, dans Antibiotics III, 521 (1975) et dans Antibiotics of the virginiamycin family, Inhibitors which contain synergistic components, C. Cocito, Microbiological Reviews, 145-98 (1979) ont été décrites des composantes des groupes A et B des streptogramines. J. Preud'Homme, P. Tarridec, et A. Belloc, Bull. Soc. Chim. Fr., 2, 585 (1968) ont également décrit la pristinamycine naturelle ainsi que les différentes composantes qui la constituent.

Toutes les tentatives d'associations purifiées de streptogramines font systématiquement intervenir la composante majoritaire du groupe A [pristinamycine IIA (PIIA)] considérée comme responsable de l'activité et de la synergie d'action. Des études ont d'ailleurs conclu à l'importance de cette composante qui provoque une meilleure synergie : EP 506 561 (page 2).

Cependant, ces tentatives n'ont jamais été couronnées de succès, d'une part à cause des difficultés de préparation industrielle et surtout parce que la pristinamycine IIA purifiée est un produit cristallisé dont la biodisponibilité s'est avérée trop faible pour pouvoir envisager d'en faire le principe actif d'un médicament.

Du point de vue de la préparation industrielle de tels produits, jusqu'à présent, les techniques à disposition n'avaient pas permis d'obtenir, à une échelle préparative, une forme suffisamment purifiée et la production de lots de qualité suffisamment constante et reproductible pour répondre aux exigences des législations de certains pays en matière d'enregistrement.

A titre d'exemple, les lots industriels de pristinamycine naturelle contiennent après purification, une quantité d'impuretés pouvant atteindre 20 %. Les tentatives de purification mises en oeuvre jusqu'à présent ont systématiquement abouti à des échecs et bien souvent à la dégradation de l'un des groupes de composants du fait qu'il s'agit de produits fragiles pour lesquels de nombreuses opérations aboutissent à l'ouverture de la structure cyclisée ou à la deshydratation des composantes du groupe A. De ce fait, pendant de nombreuses années il a été considéré qu'une amélioration du degré de pureté ne pouvait pas

être atteinte. En 1988, la purification était encore considérée comme un problème : J. of Liq. Chromatography, 11(11), 2367 (1988). Egalement en 1988, N.K. SHARMA et M.J.O. ANTEUNIS déclaraient aussi que la séparation et la purification des composantes de la virginiamycine était possible à des fins analytiques mais pas envisageable pour la production des produits, compte tenu des difficultés rencontrées : Bull. Soc. Chim. Belg., 97(3) 193 (1988).

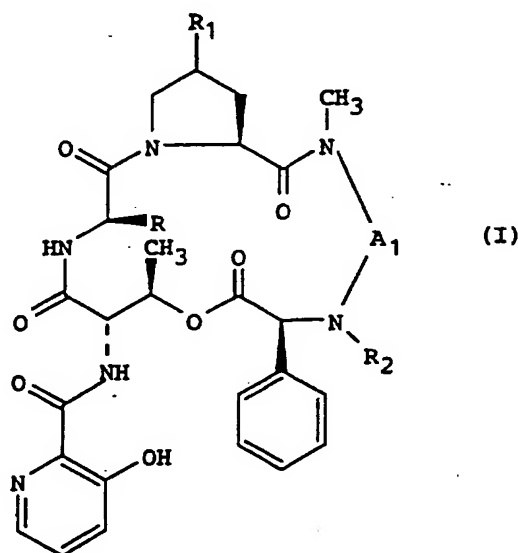
En conséquence de cette situation, la commercialisation de la pristinamycine (Pyostacine®) a été définitivement limitée à certains pays comme la France et la Belgique. Il en a été de même pour la virginiamycine (Staphylomycine®) commercialisée seulement dans un nombre limité de pays en ce qui concerne la médecine humaine, ainsi que pour la mikamycine dont la commercialisation (limitée au Japon) est maintenant arrêtée. Ceci a donc abouti pour certaines populations, à la privation d'un traitement dans le cas d'infections graves à cocci gram positif (notamment les infections à staphylococci résistant à la méthicilline) ou d'un traitement dans le cas de maladies sexuellement transmissibles.

Dans le domaine des antibactériens, il est bien connu des praticiens que des allergies ou des résistances peuvent se développer après administration de certaines classes d'antibiotiques [The New England Journal of Medicine, 324 (9), 601 (1991)]. En milieu hospitalier on connaît notamment de nombreuses souches résistantes de Staphylococcus aureus. C'est pourquoi il est extrêmement utile pour le médecin d'avoir à sa disposition un large éventail de classes chimiquement différentes de manière à pouvoir adapter le traitement au cas particulier du malade à traiter. La conséquence de l'absence de commercialisation d'une classe déterminée peut être très grave, voire dramatique puisqu'elle peut résulter dans la privation de traitement chez des malades ne tolérant pas les autres classes d'antibiotiques.

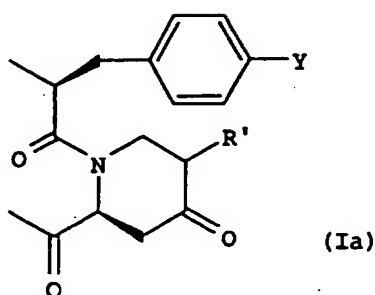
Ainsi, les essais de purification mis en oeuvre avaient toujours eu pour but d'éliminer les composantes minoritaires des streptogramines, celles-ci étant considérées comme non indispensables et plutôt comme des impuretés.

Parmi les composantes du groupe A des streptogramines naturelles, la pristinamycine IIB (PIIB) est une composante minoritaire dont la proportion en poids est inférieure à 10 % dans la pristinamycine naturelle, et le plus souvent de l'ordre de 8 % ou même de l'ordre de 5 6 % dans la virginiamycine.

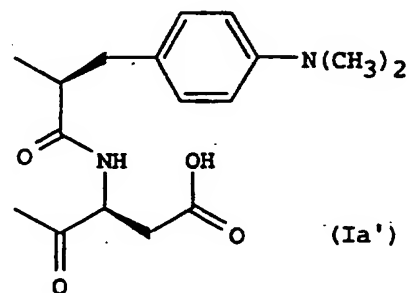
Il a été trouvé maintenant, et c'est ce qui fait l'objet de la présente invention, que l'association constituée d'une ou plusieurs composantes du groupe B, de formule générale :



10 dans laquelle A₁ est un radical de formule générale :



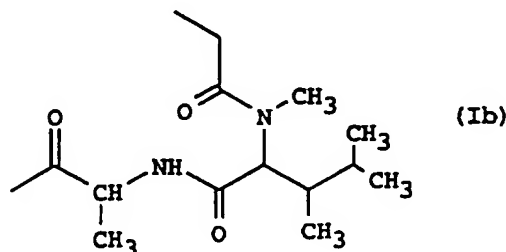
ou



pour lequel R' est un atome d'hydrogène ou un radical hydroxy et Y est un atome d'hydrogène, un radical méthylamino ou un radical diméthylamino,

R est un radical éthyle ou lorsque R' représente un atome d'hydrogène
R peut également représenter un radical méthyle, et
R₁ et R₂ représentent un atome d'hydrogène, ou bien

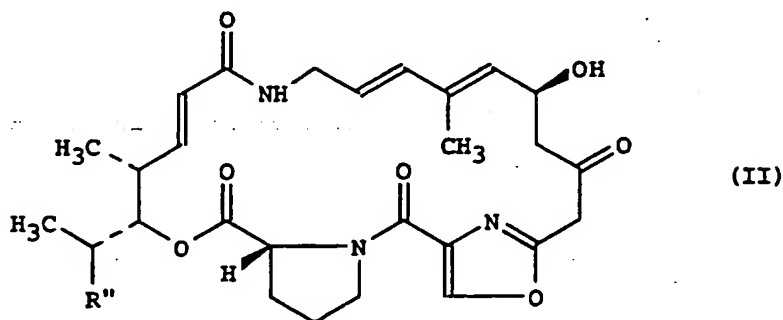
A₁ est un radical de formule :



R est un radical isobutyle, et

R₁ est un radical hydroxy et R₂ est un radical méthyle,

et d'une ou plusieurs composantes "minoritaires" du groupe A, de
formule générale :



dans laquelle R'' est un atome d'hydrogène ou un radical méthyle ou
éthyle, est particulièrement intéressante du fait de son activité
biologique in vivo.

En effet les associations selon l'invention manifestent une action
biologique in vivo nettement supérieure à celle du produit naturel
(par exemple la virginiamycine naturelle ou la pristnamycine
naturelle) ou à celle des associations faisant intervenir la
composante majoritaire du groupe A et surtout sont doués d'une
biodisponibilité tout à fait satisfaisante. De plus ces associations
peuvent être préparées à une échelle importante.

Il est ainsi possible d'accéder à une forme purifiée et biodisponible d'un produit final de bon niveau d'activité, contenant moins de 6 % d'impuretés.

Le produit de formule générale (II) pour lequel R" est un radical éthyle ci-après appelé pristinamycine IIF (PIIF) et le produit de formule générale (II) pour lequel R" est un atome d'hydrogène ci-après appelé pristinamycine IIG (PIIG) sont des produits nouveaux qui constituent des composantes très minoritaires des streptogramines dont la proportion en poids est inférieure à 0,5 % dans les lots de produit naturel.

Les associations selon l'invention sont avantageusement préparées dans des proportions de 10/90 à 90/10 (en poids) ou de préférence dans les proportions de 20/80 à 80/20. Elles se présentent à l'état de mélange physique des poudres, mais aussi, ce qui constitue un autre aspect de la présente invention, à l'état de coprécipité ; ou encore selon un troisième aspect de l'invention, à l'état de cocristallisé tel que défini ci-après.

La présente invention concerne aussi les formes purifiées constituées par l'association cocristallisée d'au moins une composante du groupe B de formule générale (I) avec au moins une composante du groupe A définie par la formule générale (II).

La cocristallisation s'effectue dans la stoechiométrie constante de 1 mole de composante(s) de formule générale (I) avec 2 moles de composante(s) du groupe A de formule générale (II) [cette stoechiométrie correspondant à la proportion relative d'environ 43-44/57-56 en poids dans le cas où la composante A est un produit de formule générale (I) pour lequel A₁ est de structure (Ia)].

L'association cocristallisée selon l'invention peut être utilisée alternativement comme agent antimicrobien purifié et stable, et possédant aussi une activité in vivo améliorée ainsi qu'une bonne biodisponibilité, ou bien comme moyen de purification d'une composante minoritaire des streptogramines répondant à la formule générale (II).

En effet, il n'a jamais été possible de purifier une composante du groupe A de formule générale (II) par cristallisation ; de ce fait, jusqu'à présent, seules des méthodes chromatographiques étaient connues pour préparer un produit purifié du groupe A de formule générale (II), et aucun autre moyen de purification n'était connu pour permettre d'isoler ces produits en quantités importantes.

Il a maintenant été montré que la composante du groupe A de formule générale (II) peut être obtenue à l'état pur en passant par l'intermédiaire de l'association cocristallisée définie ci-dessus. Un mélange brut contenant au moins 30 % d'une composante minoritaire du groupe A répondant à la formule générale (II) mis en solution dans un solvant organique tel qu'une cétone (acétone, méthyléthylcétone, méthylisobutylcétone par exemple), un ester (acétate d'éthyle, acétate d'isopropyle, acétate de butyle, acétate d'isobutyle par exemple), un solvant chloré (chlorure de méthylène, chloroforme, dichloro-1,2 éthane par exemple), ou un nitrile (acétonitrile par exemple), et additionné d'une composante du groupe B définie par la formule générale (I) donne un composé cocristallisé dans les proportions définies ci-avant. Il est entendu que la quantité de composé de formule générale (I) introduite est choisie convenablement pour que la concentration résiduelle de ce produit (après la cocristallisation) soit inférieure à sa solubilité dans le milieu. Il est également entendu que des variations dans les teneurs respectives du milieu initial en produit de formule générale (II) et en produit de formule générale (I) n'entraînent pas de modification du composé cocristallisé obtenu. L'association cocristallisée ainsi obtenue, mise en solution dans un solvant comme par exemple la méthylisobutylcétone ou le dichloroéthane et traitée en milieu acide (acide sulfurique, acide chlorhydrique par exemple) permet d'obtenir après traitement de la phase organique par un solvant comme par exemple l'hexane, la composante minoritaire du groupe A, purifiée et exempte de composante du groupe B.

Cette association cocristallisée présente par ailleurs l'avantage d'une stabilité fortement accrue, d'une pureté élevée et surtout de permettre une industrialisation aisée.

Il est bien entendu que cette méthode peut être aussi adaptée à la préparation de cocristallisats avec des dérivés modifiés des composantes naturelles du groupe B des streptogramines et que ces cocristallisats entrent aussi dans le cadre de la présente invention ; de même la préparation des formes purifiées de composantes minoritaires de formule générale (II) à partir de tels cocristallisats entre également dans le cadre de la présente invention.

Un mode préféré de réalisation de l'invention concerne une association de pristinamycine IB [telle que définie ci-dessus lorsque A₁ représente un radical de formule générale (Ia) pour lequel Y est un radical méthylamino et R' est un atome d'hydrogène, et R est un radical éthyle] ou de virginiamycine S1 [telle que définie ci-dessus lorsque A₁ représente un radical de formule générale (Ia) pour lequel Y et R' sont des atomes d'hydrogène, et R est un radical éthyle] ou d'un mélange de virginiamycine S1 et de virginiamycine S4 [telle que définie ci-dessus lorsque A₁ est défini comme pour la virginiamycine S1 et R est un radical méthyle] avec la pristinamycine IIB [telle que définie ci-dessus par la formule générale (II) dans laquelle R" est méthyle] et contenant moins de 6 % d'impuretés et de préférence moins de 3 % d'impuretés.

Un mode préféré de réalisation de l'invention concerne également une streptogramine purifiée constituée de l'association d'une composante du groupe B des streptogramines définie par la formule générale (I) et d'une composante du groupe A de formule générale (II) contenant une proportion relative des composantes des groupes B et A dans un rapport molaire constant de l'ordre de 1/2.

Selon l'invention, les nouvelles associations d'au moins une composante du groupe B des streptogramines de formule générale (I) et d'au moins une composante du groupe A de formule générale (II) peuvent être obtenues par exemple par préparation du composé cocristallisé tel que défini ci-dessus. Lorsque l'on veut obtenir une association dans des proportions différentes, le composé cocristallisé ainsi préparé peut être associé avec au moins une des composantes de formule générale (I) ou avec au moins une composante du groupe A de

formule générale (II) préalablement purifiées et en quantité convenable pour obtenir les proportions souhaitées, ou bien la composante du groupe A de formule générale (II) (ou leur mélange) peut être purifiée à partir du cocristallisé puis mélangée dans les proportions souhaitées avec une ou plusieurs composantes du groupe B de formule générale (I). Alternativement les associations selon l'invention peuvent être préparées après isolement de la(des) composante(s) du groupe B et de la composante du groupe A de formule générale (II) à partir de la streptogramine naturelle correspondante, par purification de chacune de ces composantes, puis mélange des composantes purifiées, dans les proportions souhaitées telles que définies précédemment.

Les associations selon l'invention peuvent également être coprécipitées dans les proportions souhaitées, à partir d'une solution des composantes de formule générale (I) et (II) [ou alternativement d'une solution du cocristallisé et de l'une des composantes de formule générale (I) ou (II)] dans la méthylisobutylcétone, dans l'acétone ou le chlorure de méthylène, versée dans l'hexane, le cyclohexane ou dans l'eau.

La préparation et la séparation des composantes des groupes A et B est effectuée par fermentation et isolement des constituants à partir du mout de fermentation selon ou par analogie avec la méthode décrite par J. Preud'homme et coll., Bull. Soc. Chim. Fr., vol.2, 585 (1968), dans Antibiot. & Chemother., 5, 632 (1955) ou 7, 606 (1957), dans Chromatog. Sym., 2° Bruxelles, 181 (1962), dans Antibiot. Ann., 728 784 (1954-55), dans le brevet US 3 299 047 ou dans Streptogramine als Modellsysteme für den Kationentransport durch Membranen, Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Georg-August Universität zu Göttingen, Göttingen 1979 ou comme décrit ci-après dans les exemples. Notamment dans le cas des pristinamycines, la séparation des composantes des groupes A et B est effectuée par mise en suspension de la streptogramine brute dans un solvant organique comme un acétate (acétate d'éthyle par exemple) suivie de la filtration ou de la centrifugation de la composante brute du groupe A, et de l'extraction de la composante du

groupe B en milieu acide aqueux suivie d'une réextraction en milieu chlorométhylénique. La séparation des composantes des groupes A et B peut également être effectuée par extraction acide d'une solution de streptogramine brute dans la méthylisobutylcétone, puis isolement par
5 extraction de la composante du groupe B à partir de la phase aqueuse et isolement de la composante du groupe A par précipitation à partir de la phase organique.

Après séparation, la purification des composantes du groupe B des streptogramines peut être mise en oeuvre par cristallisation dans un
10 alcool tel que l'éthanol, le méthanol ou l'isopropanol, dans un acétate (acétate d'isopropyle ou acétate de butyle par exemple), dans une cétone (méthyléthylcétone par exemple) ou dans l'acétonitrile ou par chromatographie. La purification des composantes du groupe A de formule générale (II) peut être effectuée par chromatographie en
15 éluant par un mélange acétonitrile-eau.

Alternativement la préparation des composantes des groupes A et B respectivement de formule générale (II) et (I) est effectuée comme décrit dans la demande de brevet français 2 689 518, par fermentation séparée selon les étapes suivantes :

- 20 - première étape (facultative), mutagénèse sur un microorganisme producteur de streptogramines non-sélectif, et,
- deuxième étape, sélection des microorganismes sélectifs.

Les microorganismes non-sélectifs sont généralement des Actinomycètes et des champignons. Les microorganismes de départ utilisables dans le
25 procédé sont notamment des microorganismes producteurs non-sélectifs d'une streptogramine choisie parmi le groupe comprenant la pristinamycine, la virginiamycine, la mikamycine, l'ostréogrycine, la viridogriséine, la vernamycine et l'étamycine. A titre d'exemple, des microorganismes non-sélectifs pouvant être employés sont cités ci-
30 après dans le tableau.

MICROORGANISMES	ANTIBIOTIQUES
CHAMPIGNONS	
Micromonospora sp.	vernAMYCine
STREPTOMYCES	
S.alborectus	virginiamycine
S.griseus (NRRL2426)	viridogriséine
S.lavendulae	étamycine
S.loïdensis (ATCC11415)	vernAMYCine
S.mitakaensis (ATCC15297)	mikamycine
S.ostreogriseus (ATCC27455)	ostréogrycine
S.pristinaespiralis (ATCC25486)	pristinamycine
S.virginiae (ATCC13161)	virginiamycine
ACTINOMYCES	
A.daghestanicus	etamycine

Plus particulièrement, la préparation est mise en oeuvre à partir de microorganismes choisis parmi Streptomyces alborectus, Streptomyces mitakaensis, Streptomyces pristinaespiralis, Streptomyces ostreogriseus et Streptomyces virginiae.

- 5 La première étape de la préparation consiste à modifier le microorganisme non-sélectif, de manière à augmenter ses capacités globales de production d'antibiotique, et/ou à ce qu'il ne synthétise qu'une seule des 2 composantes des streptogramines. Ceci peut être obtenu par modifications génétiques (mutation au niveau de gènes de structure d'enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse, ou au niveau des séquences permettant l'expression de tels gènes de structure par exemple) ou biochimiques (modification d'un mécanisme post-translationnel, altération d'un mécanisme de rétroinhibition etc.). Différents outils de mutagenèse sont utilisés :
- 10
- 15 - des agents physiques : rayons X, rayons Ultra Violet ; ou,
- des agents chimiques : des agents alkylants tels que l'éthylméthanesulfonate (EMS), la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (Delic et al. Mutation Res. 9 (1970) 167-182), ou la 4-nitroquinoléine-1-oxyde (NQO) ; des agents bialkylants ; des agents intercalants ; ou,

- tout système d'insertion mutationnel sur l'ADN, et en particulier les transposons, les plasmides intégratifs, les phages ou les prophages ; ou encore,
- la fusion de protoplastes (Cohen, Nature 268 (1977) 171-174).

5 Ces outils (seuls ou en combinaison) peuvent être appliqués sur les microorganismes non-sélectifs à l'état de spores, de spores germées ou en cours de germination ou sur mycélium. La préparation peut aussi faire appel à des manipulations (au hasard ou dirigées) permettant d'obtenir des microorganismes capables de produire sélectivement une
10 composante des streptogramines à partir de microorganismes non-sélectifs.

La seconde étape de la préparation concerne l'identification et l'isolement des microorganismes sélectifs. Cette étape peut être réalisée notamment au moyen d'un test de sensibilité vis-à-vis d'un
15 germe. Différents germes sensibles spécifiquement aux composantes du groupe A ou à celles du groupe B des streptogramines existent : par exemple *Bacillus subtilis* (ATCC6633), *Bacillus circulans*, *Bacillus cereus* (Watanabe, J. Antibio. Ser. A XIII(1) (1960) 62), ou *C.xerosis* (Watanabe précitée) qui sont sensibles spécifiquement aux composantes
20 du groupe B; *Streptococcus agalactiae* B96 (Antimicrob. Agents Chemother. 10(5) (1976) 795), *Micrococcus luteus* (Prikrlyova précitée) ou *Sarcina lutea* (ATCC9341) qui sont sensibles spécifiquement aux composantes du groupe A. Il est aussi possible de préparer artificiellement des germes sensibles spécifiquement à une composante des streptogramines en insérant, dans un germe sensible aux 2 composantes des
25 streptogramines, un gène de résistance à l'une d'entre-elles. Certains de ces gènes ont été clonés (Le Goffic et al., J. Antibio. XXX(8), 665 (1977) ; Le Goffic et al., Ann. Microbiol. Inst. Pasteur 128B, 471 (1977) ; Solh et al., Path. Biol. 32(5), 362, (1984), de
30 tels gènes sont introduits dans différents germes par des techniques classiques de biologie moléculaire. L'étape de sélection peut également être effectuée par test ELISA au moyen d'anticorps spécifiques des composantes A ou B, ou encore par des techniques analytiques telles que la chromatographie (chromatographie liquide, chromatogra-
35 phie sur couche mince, etc..). Dans le cas d'un test de sensibilité

vis-à-vis d'un germe, il est en outre préférable de valider la sélection par dosage chromatographique.

Ainsi, selon l'invention il est maintenant possible d'obtenir en quantité industrielle, un nouvelle forme purifiée de streptogramine dont le taux d'impuretés, la définition et la constance de la composition est conforme aux exigences des législations sur l'enregistrement et qui possède de surcroît une activité in vivo et une biodisponibilité améliorées ainsi qu'une moindre toxicité. La nouvelle association pourra ainsi pallier à l'absence de traitement par un antibactérien de cette classe dans de nombreux pays.

La nouvelle association d'une composante du groupe B des streptogramines de formule générale (I) et d'une composante du groupe A des streptogramines de formule générale (II) présente une activité in vivo particulièrement intéressante notamment sur les germes à Gram-positif. In vivo, chez la souris elle s'est montrée active sur *Staphylococcus aureus* IP 8203 à des doses de 30 à 50 mg/kg par voie orale.

A titre d'exemple la DC_{50} par voie orale de plusieurs associations des composantes de formule générale (I) et (II), dans l'infection expérimentale de la souris à *Staphylococcus aureus* IP 8203, sont données ci-après.

Dans le tableau I ci-après, les associations étudiées sont préparées par coprécipitation dans l'hexane, à partir d'une solution des composantes de formule générale (I) et (II) dans la méthylisobutylcétone ou dans l'acétone :

Association produit (I) / produit (II) : PI (exemple 1)/PIIB (exemple 18)	DC ₅₀ (mg/kg) p.o.
10/90	44
20/80	32
30/70	30
70/30	30
80/20	30
90/10	50

Tableau I

Dans le tableau II ci-après les associations illustrées sont des produits cocristallisés préparés comme décrits dans les exemples.

Association produit (I) / produit (II) cocristallisés	DC ₅₀ (mg/kg) p.o.
PI/PIIB (exemple 9)	38
PIA/PIIB (exemple 11)	28
PIB/PIIB (exemple 12)	32

PIC/PIIB (exemple 13)	36
Association produit (I) / produit (II) cocristallisés	DC ₅₀ (mg/kg) p.o.
PID/PIIB (exemple 14)	50
Facteur S/PIIB (exemple 15)	32
Facteur S1/PIIB (exemple 16)	50
Facteur S/PIIF (exemple 17)	50

Tableau II

Dans le tableau III ci-après l'association décrite est préparée sous forme d'un mélange physique des poudres.

Association produit (I) / produit (II)	DC ₅₀ (mg/kg) p.o.
PIA (exemple 1)/PIIB (exemple 18) 30/70	36
PIA (exemple 1)/PIIB (exemple 18) 50/50	40
Facteur S (exemple 5)/PIIB (exemple 18) 30/70	44

Tableau III

- 5 De plus la nouvelle association ne présente pas de toxicité : aucun signe de toxicité ne se manifeste chez la souris à la dose de 150 mg/kg par voie orale (2 administrations).

Selon l'invention, lorsque l'association cocristallisée est utilisée comme moyen de purification de la composante de formule générale
10 (II), celle-ci peut être obtenue par extraction acide d'une solution

du composé cocristallisé dans une cétone (méthylisobutylcétone par exemple), puis isolément par extraction de la composante du groupe A par précipitation à partir de la phase organique.

Les exemples suivants donnés à titre non limitatif illustrent la présente invention.

Dans les exemples qui suivent il est entendu que les titres sont donnés en % en poids.

SEPARATION ET PURIFICATION DE COMPOSANTES DU GROUPE B :

Exemple 1

30 kg de pristinamycine brute [pristinamycine IA (PIA) : 20,7 %, pristinamycine IB (PIB) : 3,9 %, pristinamycine IC (PIC) : 0,6 %, pristinamycine ID (PID) : 0,3 %, pristinamycine IIB (PIIB) : 8 %, pristinamycine IIA (PIIA) : 45 %, pristinamycine IIF (PIIF) : < 0,5 % (non dosé), pristinamycine IIG (PIIG) : < 0,5 % (non dosé)] sont mis en suspension dans 210 litres d'acétate d'éthyle et agités pendant 15 heures à température ambiante. La suspension est filtrée et le filtrat acétate d'éthyle recueilli est extrait par 2 fois 20 litres d'acide sulfurique 1N puis 20 litres d'eau distillée. Les phases aqueuses réunies sont lavées par 6 fois 15 litres d'acétate d'éthyle, puis ajustées à pH 7 par addition de 30 litres d'une solution à 10 % de bicarbonate de sodium et extraites par 3 fois 30 litres de chlorure de méthylène. Les phases chlorométhyléniques sont réunies et lavées par 10 litres d'eau distillée. Le chlorure de méthylène est ensuite distillé et remplacé par 50 litres d'éthanol. Le mélange est alors traité au reflux par 0,8 kg de noir L3S pendant 30 minutes. Après filtration et lavage par 2 fois 5 litres d'éthanol, le mélange est refroidi jusqu'à 10°C en 15 heures. Après maintien une heure à 10°C, la suspension est filtrée et lavée par 3 fois 7 litres d'éthanol. Après séchage du solide à 40°C sous pression réduite, on obtient 5,7 kg de pristinamycine I purifiée (ci-après appelée PI).

Titre: 96,8 % (PIA : 81,1 %, PIB : 12 %, PIC : 2,6 %, PID : 1,1 %);
Rendement en PIA : 74 %.

1500 g de PI purifiée sont repris par 9 litres de dichloro-1,2 éthane puis additionnés de 1,5 équivalent d'anhydride succinique et de 0,015 équivalent de diméthylaminopyridine. La solution est maintenue 1 semaine à 20°C, puis introduite sur une colonne contenant 10 kg de silice (20-45 µm) [hauteur de la colonne : 1 m ; diamètre : 20 cm]. L'élution est effectuée par percolation d'un mélange dichloro-1,2 éthane/méthanol à un débit de 18 litres/heure pendant 6 heures; le pourcentage de méthanol (à 5 % de teneur en eau) est augmenté de 0 à 4 % au cours de la chromatographie. 47 fractions de 2,4 litres sont récupérées.

Les fractions 5 à 15 sont réunies, le dichloro-1,2 éthane est évaporé et remplacé par 5 litres d'éthanol. Après cristallisation, on obtient 365 g de PIA titrant 99,8 %.

Exemple 2

Les fractions 36 à 39 de la chromatographie décrite à l'exemple 1 sont réunies, et le dichloro-1,2 éthane est distillé; 210 g de solide sont ainsi obtenus. 40 g de ce solide est repris par 8 litres d'eau auquel sont ajouté 8 cm³ d'acide chlorhydrique 10 N. Après 3 heures à 90°C, on neutralise la solution à pH 6,5 avec de l'hydrogéno-carbonate de sodium. La solution est extraite par 3 fois 1 litre d'acétate d'éthyle, et l'extract lavé par 2 fois 0,2 litre d'eau. Après traitement au noir, l'acétate d'éthyle est évaporé, et remplacé par 600 cm³ d'éthanol. Après recristallisation, on obtient 20 g de PIB titrant 97 %.

Exemple 3

Les fractions 22 à 26 de la chromatographie décrite à l'exemple 1 sont réunies, et le dichloro-1,2 éthane est distillé; 139 g de solide sont ainsi obtenus. Ce solide est repris par un minimum de dichloro-1,2 éthane, et introduit sur une colonne de silice. L'élution est effectuée par percolation d'un mélange dichloro-1,2 éthane/méthanol à un débit de 18 litres/heure pendant 6 heures; le pourcentage de méthanol (à 5 % de teneur en eau) est augmenté de 0 à 5 % au cours de la chromatographie. 48 fractions de 2,4 litres sont récupérées. Les

fractions 38 à 43 sont évaporées et le solide repris par 300 cm³ d'éthanol. Après recristallisation, on obtient 22 g de PI à 40 % de PIC. Des chromatographies successives sur silice (20-45 µm) avec percolation par un éluant chlorure de méthylène/méthanol (98/2 en volumes) permettent d'obtenir 5 g d'un solide qui, après battage à la méthyl-isobutylcétone et recristallisation dans l'éthanol, titre 95 % en PIC.

Exemple 4

1000 g de PI obtenus comme décrit précédemment à l'exemple 1, sont mis en solution dans le minimum de chloroforme et purifiés par fractions successives sur colonne de silice (20-45 µm). Après élution par du chloroforme contenant 2 à 5 % de méthanol, on obtient un produit qui est concentré à sec. Ce produit est ensuite purifié par 2 passages successifs sur colonne de résine Diaion[®] percolée avec un mélange acétonitrile/eau (60/40 en volumes). Les fractions sont contrôlées par chromatographie. Les fractions contenant la PID sont réunies et concentrées à sec. On obtient ainsi, environ 3 g de produit titrant 60 % en PID. Une purification complémentaire est effectuée par chromatographie à contre-courant en utilisant le mélange de solvants méthylisobutylcétone/acétone/acide formique (40/2/40 en volumes). La concentration à sec des fractions contenant la PID permet d'obtenir 1 g d'un solide titrant 95 % de PID.

Exemple 5

400 g de Staphylomycine[®] (sous forme de comprimés - composition initiale: virginiamycine S1 (S1) : 3,4 %, virginiamycine S4 (S4): 0,9 %) sont introduits dans 4 litres d'eau.

Les comprimés sont désagregés par agitation pendant 15 minutes à 20°C. On ajoute 1 litre de chlorure de méthylène et on poursuit l'agitation pendant 1 heure. La phase chlorométhylénique est ensuite décantée et filtrée, puis versée en 30 minutes dans un volume de 5 litres d'hexane agité. Après 1 heures d'agitation, on filtre la suspension et on recueille un solide qui est lavé par 3 fois 250 cm³ d'hexane. Après séchage, on récupère 52 g de solide qui est mis en

suspension dans 370 cm³ d'acétate d'éthyle. 2 battages successifs à 20°C et d'une durée de 18 heures sont réalisés. Le filtrat correspondant à chaque battage est porté à sec, puis dissous dans 850 cm³ de méthanol au reflux. Après descente progressive de la température jusqu'à -20°C en 16 heures, on recueille par filtration un solide qui est lavé par une petite quantité de méthanol. Après séchage du solide à 35°C sous pression réduite, on obtient 9 g de facteur S (virginiamycine S).

Titre: 96 % (S1 : 75,4 %, S4 : 20,6 %).

10 Rendement en facteur S1 (virginiamycine S1) : 50 %.

Exemple 6

1 g de facteur S obtenu comme décrit précédemment à l'exemple 5, mis en solution dans l'acétonitrile à raison de 125 mg/cm³, est purifié en 4 opérations par chromatographie sur colonne de Nucléosil5C8® (hauteur 25 cm, diamètre extérieur 2,54 cm) en injectant un volume de 2 cm³ et en éluant par un mélange eau/acétonitrile 60/40 en volumes, sous un débit de 7,5 cm³/minute. On recueille à chaque fois un volume de 120 cm³ contenant le facteur S1, soit 480 cm³ en tout. La chromatographie est répétée 4 fois afin de traiter la totalité des 1 g de facteur S. On recueille ainsi un volume d'environ 500 cm³ contenant le facteur S1. L'acétonitrile est éliminé au moyen d'un évaporateur rotatif. La phase aqueuse est extraite par 3 fois 50 cm³ de dichlorométhane. Les phases chlorométhyléniques sont rassemblées, lavées par 50 cm³ d'eau distillée, séchées sur sulfate de sodium et filtrées. Le dichlorométhane est éliminé au moyen d'un évaporateur rotatif, sous pression réduite (5 mm de mercure). On obtient ainsi 0,67 g de facteur S1 titrant 99,6 %.

PREPARATION DE COMPOSANTES BRUTES DU GROUPE A :

Exemple 7

30 500 g de pristinamycine brute [pristinamycine IA (PIA) : 20,7 %, pristinamycine IB (PIB) : 3,9 %, pristinamycine IC (PIC) : 0,6 %, pristinamycine ID (PID) : 0,3 %, pristinamycine IIB (PIIB) : 8 %,

pristinamycine IIA (PIIA): 45 %) sont mis en solution dans 50 litres de méthylisobutylcétone. Cette solution est extraite 5 fois par une phase aqueuse composée de 2,5 litres d'eau et 2,5 litres d'acide sulfurique 1 N, puis lavée par 3 fois 10 litres d'eau. La méthylisobutylcétone est ensuite traitée par 7,5 litres d'une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium à 35 g/litre, puis lavée par 5 litres d'eau. A chaque fois, la phase aqueuse est mélangée avec la phase organique, décantée et séparée.

La phase organique obtenue est mise en contact avec 750 g d'alumine, filtrée, concentrée jusqu'à un volume de 4 litres environ et reprise par 5 volumes d'hexane. Le précipité obtenu est filtré et séché. On obtient 300 g de produit que l'on met en suspension dans 1 litre d'isopropanol. Après agitation à 55°C pendant 45 minutes, on filtre à 4°C. Les eaux-mères de filtration sont concentrées à sec, reprises par 500 cm³ de méthylisobutylcétone sur lesquels on verse 5 volumes d'hexane. Le précipité est filtré, lavé à l'hexane et séché à 40°C sous pression réduite. On obtient 69 g de PIIB brute contenant 36 % de PIIB, 6 % de PIIA et ne contenant plus de PIA.

Exemple 8

60 g de PIIB brute obtenue comme précédemment à l'exemple 7 sont purifiés en plusieurs opérations, par chromatographie sur colonne de Nucléosil5C8[®] (diamètre de la colonne 5 cm, hauteur 30 cm) percolée par un éluant eau/acétonitrile 60/40. On obtient ainsi 250 mg de pristinamycine IIF (PIIF).

25 PREPARATION D'UN PRODUIT COCRISTALLISE :

Dans les exemples qui suivent, il a été démontré que le spectre de diffraction X du produit cocristallisé est différent du spectre de la composante du groupe B cristallisée seule dans le même solvant, lorsqu'elle existe.

Exemple 9

La PIIB brute obtenue précédemment à l'exemple 7 est mise en solution dans 190 cm³ d'acétone. On ajoute 33 g de PI purifiée (PIA : 81,1 %, PIB : 12 %, PIC : 2,6 %, PID : 1,1 %). Après 17 heures d'agitation à 20°C, on obtient une suspension qui est filtrée à 4°C. Le produit est lavé et séché. Après une recristallisation à 100 g/l dans l'acétone, on obtient 10 g de cristaux blancs dont le titre en PIIB+PIIF+PIIG est 55 % et le titre en PIA+PIB+PIC+PID est 43 %.

Exemple 10

10 250 mg de PIIB purifiée, obtenue comme décrit ci-après à l'exemple 18, sont mis en solution dans 17 cm³ d'acétate d'éthyle. On ajoute 300 mg de PI purifiée (PIA : 81,1 %, PIB : 12 %, PIC : 2,6 %, PID : 1,1 %). Après 20 heures d'agitation à 20°C, filtration, lavage et séchage, on obtient 125 mg de cristaux blancs.

15 Titre en PIIB+PIIF+PIIG : 56 % ; dont PIIB 54 %.
Titre en PIA+PIB+PIC+PID : 43 %.

Exemple 11

560 mg de PIIB pure obtenus comme décrit ci-après à l'exemple 18, sont mis en solution dans 5 cm³ d'acétone. On ajoute 480 mg de PIA (titre 99,8 %). On agite 20 heures à 20°C et filtre la suspension. Après lavage par 1 cm³ d'acétone et séchage pendant 30 heures à 40°C sous pression réduite (<1 kPa), on obtient 590 mg de cristaux blancs.

Titre en PIIB+PIIF+PIIG : 56 % ; dont PIIB 54 %.
Titre en PIA: 43 %.

25 Les eaux mères de la cristallisation précédente sont reprises et additionnées d'une nouvelle charge de 560 mg de PIIB. Le rapport massique PIIB/PIA est alors voisin de 4. Après 20 heures d'agitation, filtration, lavage et séchage, on obtient 195 mg de cristaux de pureté et de composition identiques à celles des cristaux issus du
30 1er jet.

Exemple 12

En opérant comme décrit ci-dessus à l'exemple 11 mais en remplaçant la PIA par 480 mg de PIB (titre 97 %) on obtient 820 mg de cristaux blancs dont le titre en PIIB+PIIF+PIIG est 56 % (dont PIIB 54 %) et le titre en PIB est 43 %.

Exemple 13

En opérant comme décrit ci-dessus à l'exemple 11 mais en engageant 680 mg de PIIB et 580 mg de PIC (titre 95 %) dans 4 cm³ d'acétone on obtient 315 mg de cristaux blancs dont le titre en PIIB+PIIF+PIIG est 57 % (dont PIIB 55 %) et le titre en PI est 42 % (dont 37 % de PIC).

Exemple 14

En opérant comme décrit ci-dessus à l'exemple 11 mais en remplaçant la PIA par 480 mg de PID (titre 95 %) on obtient 475 mg de cristaux blancs dont le titre en PIIB+PIIF+PIIG est 55 % (dont PIIB 53 %) et le titre en PID est 39 %.

Exemple 15

En opérant comme décrit ci-dessus à l'exemple 11 mais en engageant 450 mg de PIIB et 380 mg de facteur S (S1 : 75,4 %, S4 : 20,6 %) dans 4 cm³ d'acétone on obtient 550 mg de cristaux blancs dont le titre en PIIB+PIIF+PIIG est 58 % (dont PIIB 56 %) et le titre en facteur S est 41 % (dont 37 % de S1).

Exemple 16

En opérant comme décrit ci-dessus à l'exemple 11 mais en remplaçant la PIA par 480 mg de facteur S1, on obtient 750 mg de cristaux blancs dont le titre en PIIB+PIIF+PIIG est 58 % (dont PIIB 54 %) et le titre en facteur S1 est 41 %.

Exemple 17

En opérant comme décrit ci-dessus à l'exemple 11 mais en engageant 224 mg de PIIF et 192 mg de Facteur S dans 2 cm³ d'acétone, on

obtient 220 mg de cristaux blancs dont le titre en PIIF est 55 % et le titre en facteur S est 39 % (dont facteur S1 : 31 %, facteur S4 : 5 %).

Diagrammes de diffraction X des produits des exemples 9 à 17 :

- 5 Dans le tableau IV ci-après sont données les intensités relatives des raies principales. Les diagrammes de diffraction X sont effectués sur diffractomètre Phillips PW1700 à anticathode de cobalt. La référence 100 est donnée pour la raie à 15,8 Å. Les valeurs relatives sont estimées par la mesure de la hauteur de la raie, fond continu déduit.

distance inter-réticulaire	Produit de l'exemple							
(Å)	Ex. 9	Ex. 11	Ex. 12	Ex. 13	Ex. 14	Ex. 15	Ex. 16	Ex. 17
15,8	100	100	100	100	100	100	100	100
11,8	40	34	35	32	43	28	36	21
10,3	69	52	63	65	50	70	80	87
9,7	38	45	47	44	43	40	49	45
6,4	44	41	51	41	37	40	51	39
6,1	38	41	40	38	43	30	40	35
5,9	75	64	70	63	67	74	89	71
5,8	38	39	47	49	50	44	54	35
5,2	92	75	79	71	70	70	91	81
5,0	67	59	60	60	57	54	69	52
4,7	50	43	53	49	47	50	40	42

Les diagrammes de diffraction X sont similaires quel que soit le produit cocristallisé (les distances interréticulaires des raies principales ne sont pas significativement différentes).

PURIFICATION D'UNE COMPOSANTE DU GROUPE A :

5 Exemple 18

9,3 g du produit obtenu à l'exemple 9 sont dissous dans 490 cm³ de méthylisobutylcétone. Cette solution est extraite deux fois par 370 cm³ d'une solution aqueuse d'acide sulfurique 0,5 N puis lavée par deux fois 150 cm³ d'eau. La phase organique est ensuite concen-
10 trée jusqu'à un volume de 80 cm³ environ que l'on verse sur 5 volumes d'hexane. Le précipité obtenu est lavé, filtré et séché. Pour élimi-
ner la méthylisobutylcétone, il est ensuite repris à 100 g/l dans l'acétone, versé sur 10 volumes d'hexane, lavé et séché. On obtient
15 3,5 g d'un produit contenant la PIIB purifiée et ne contenant plus de PI.

Titre PIIB+PIIF+PIIG: environ 95 % dont 92 % de PIIB.

La présente invention concerne également les compositions pharmaceu-
tiques utilisables en médecine humaine ou vétérinaire qui contiennent
comme produit actif la nouvelle association purifiée de streptogra-
mine comprenant au moins une composante du groupe B des streptogra-
20 mines associée à la composante du groupe A de formule générale (II),
à l'état pur ou en présence d'un ou plusieurs diluants ou adjuvants
compatibles et pharmaceutiquement acceptables. Ces compositions peu-
vent être utilisées par voie orale ou topique. Elles peuvent contenir
25 les associations selon l'invention à l'état de mélange physique des
poudres, de coprécipitat ou de cocristallisat

Comme compositions pour administration orale, peuvent être utilisés
des comprimés, des gélules, des pilules, des poudres des lyophilisats
ou des granulés. Dans ces compositions, le produit actif selon l'in-
30 vention peut être mélangé à un ou plusieurs diluants ou adjuvants
inertes, tels que saccharose, lactose ou amidon. Ces compositions

peuvent également comprendre des substances autres que les diluants, par exemple un lubrifiant tel que le stéarate de magnésium.

Les compositions pour administration topique peuvent être par exemple des crèmes, des pommades, ou des lotions.

- 5 En thérapeutique humaine ou vétérinaire, les compositions selon l'invention sont particulièrement utiles dans le traitement des infections d'origine bactérienne notamment les infections graves à cocci Gram-positif : infections à staphylocoques (notamment les infections à staphylocoque résistant à la méthicilline), infections à strepto-
- 10 coques (notamment sur les pneumocoques résistants à la pénicilline et aux macrolides) ; ils sont aussi particulièrement utiles dans le traitement des infections à Hemophilus, Moraxella catarrhalis, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Mycoplasma pneumoniae, Ureaplasma urealyticum.
- 15 Les compositions selon l'invention peuvent être employées notamment dans le traitement des infections respiratoires hautes et basses (par exemple traitement des infections pulmonaires), dans le traitement des infections cutanées, dans le traitement à long terme des infections osseuses ou articulaires, dans le traitement ou la prophylaxie
- 20 de l'endocardite en chirurgie dentaire et urinaire, dans le traitement des maladies sexuellement transmissibles, ainsi que dans le traitement des infections opportunistes bactériennes et parasitaires survenant dans le SIDA et en prophylaxie du risque staphylococcique chez l'immunodéprimé.
- 25 D'une façon générale, le médecin déterminera la posologie qu'il estime la plus appropriée en fonction de l'âge, du poids, du degré de l'infection et des autres facteurs propres au sujet à traiter. Généralement, les doses sont comprises entre 0,4 et 3,5 g de produit actif en 2 ou 3 prises par jour, par voie orale pour un adulte.
- 30 Les exemples suivants, donnés à titre non limitatif, illustrent des compositions selon l'invention :

Exemple A

On prépare selon les techniques habituelles des gélules opaques dosées à 250 mg de l'association PIB/PIIB cocristallisée.

Exemple B

- 5 On prépare selon les techniques habituelles des gélules opaques dosées à 250 mg de l'association Facteur S/PIIB cocristallisé.

Exemple C

On prépare selon les techniques habituelles des comprimés dosés à 384 mg de produit actif, ayant la composition suivante :

- 10 - PIB/PIIB (45%/55%)384 mg
- Hydroxypropylméthylcellulose 25 mg
- Stéarate de magnésium 35 mg
- Silice colloïdale 14 mg
- Amidonqsp 700 mg

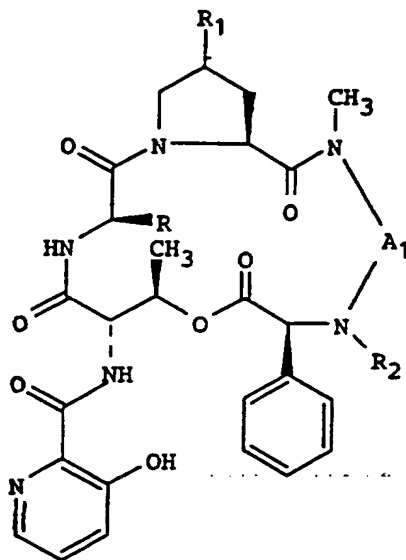
15 Exemple D

On prépare selon les techniques habituelles des comprimés dosés à 384 mg de produit actif, ayant la composition suivante :

- Facteur S/PIIB (45%/55%) 384 mg
- Hydroxypropylméthylcellulose 25 mg
20 - Stéarate de magnésium 35 mg
- Silice colloïdale 14 mg
- Amidonqsp 700 mg

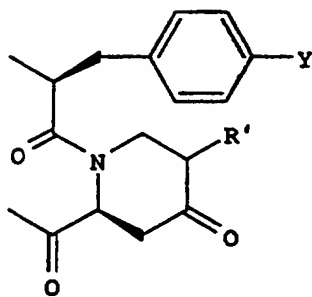
REVENDICATIONS

1 - Une forme purifiée de streptogramines caractérisée en ce qu'elle est constituée de l'association d'une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines, de formule générale :

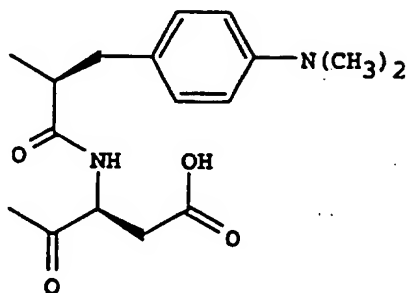


5

dans laquelle A_1 est un radical de formule générale :



ou



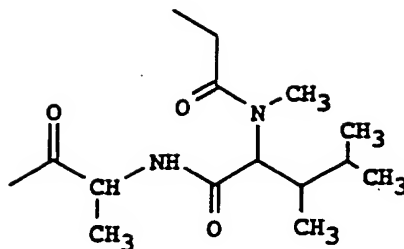
pour lequel R' est un atome d'hydrogène ou un radical hydroxy et Y est un atome d'hydrogène, un radical méthylamino ou un radical diméthylamino,

10 R est un radical éthyle ou lorsque R' représente un atome d'hydrogène R peut également représenter méthyle, et

R_1 et R_2 représentent un atome d'hydrogène ou bien,

A_1 est un radical de formule :

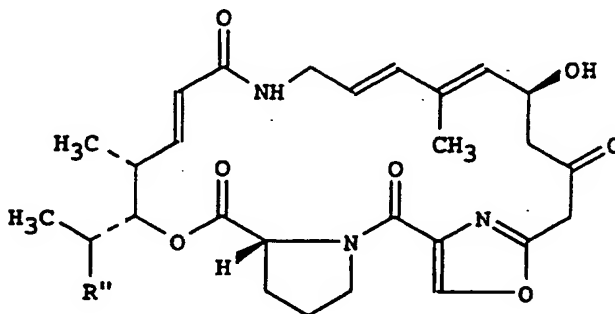
28



R est un radical isobutyle, et

R₁ est un radical hydroxy et R₂ est un radical méthyle,

et d'une ou plusieurs composantes minoritaires du groupe A des streptogramines, de formule générale :



dans laquelle R'' est un atome d'hydrogène ou un radical méthyle ou éthyle, à l'état de cocristallisé, de coprécipitat ou de mélange physique des poudres.

2 - Une forme purifiée de streptogramines selon la revendication 1 caractérisée en ce qu'elle contient moins de 6 % d'impuretés.

3 - Une forme purifiée de streptogramines selon l'une des revendications 1 ou 2, constituée d'une association dans des proportions de 10/90 à 90/10 (en poids), respectivement d'une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines et d'une ou plusieurs composantes minoritaires du groupe A des streptogramines telles que définies dans la revendication 1, à l'état de coprécipitat ou de mélange physique des poudres.

4 - Une forme purifiée de streptogramines selon l'une des revendications 1 à 3, constituée d'une association de 20/80 à 80/20 (en poids)

respectivement d'une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines et d'une ou plusieurs composantes minoritaires du groupe A des streptogramines telles que définies dans la revendication 1, à l'état de coprécipitat ou de mélange physique des poudres.

5 5 - Une forme purifiée de streptogramines selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'il s'agit d'un composé cocristallisé d'une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines et d'une ou plusieurs composantes minoritaires du groupe A des streptogramines telles que définies dans la revendication 1, dans un rapport
10 molaire de l'ordre de 1/2.

6 - Utilisation d'un composé cocristallisé selon la revendication 5 pour la préparation d'une forme purifiée de streptogramines selon l'une des revendications 1 à 4.

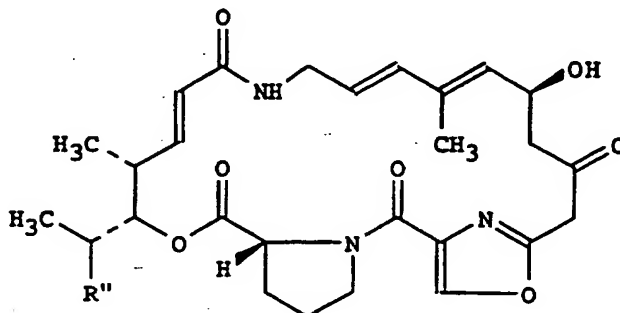
7 - Utilisation d'un composé cocristallisé selon la revendication 5
15 pour la purification d'une composante minoritaire du groupe A des streptogramines telle que définie dans la revendication 1.

8 - Un procédé de préparation d'une forme purifiée de streptogramines selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que l'on cocristallise la(les) composante(s) du groupe A des streptogramines,
20 avec la(les) composantes du groupe B des streptogramines telles que définies dans la revendication 1, puis le cas échéant associe le composé cocristallisé obtenu avec la (ou les) composante(s) convenable(s) du groupe A ou B pour obtenir une association dans les proportions souhaitées.

25 9 - Un procédé de purification d'une composante minoritaire du groupe A des streptogramines définie dans la revendication 1, caractérisé en ce que l'on prépare un composé cocristallisé de cette composante avec une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines, puis élimine la (les) composantes du groupe B par traitement
30 en milieu acide.

10 - Une composante purifiée du groupe A des streptogramines telle que définie dans la revendication 1, lorsqu'elle est obtenue par l'intermédiaire d'un composé cocristallisé selon la revendication 5.

11 - Une composante du groupe A des streptogramines de formule générale :



dans laquelle R'' est un atome d'hydrogène ou un radical éthyle.

12 - Utilisation d'une ou plusieurs composantes minoritaires du groupe A des streptogramines telles que définies dans la revendication 1, pour la préparation de cocristallisats avec une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines ou leurs dérivés.

13 - Composés cocristallisés constitués d'une ou plusieurs composantes du groupe B des streptogramines ou de leurs dérivés, et d'une ou plusieurs composantes minoritaires du groupe A des streptogramines définies dans la revendication 1.

14 - Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle contient une forme purifiée de streptogramines selon l'une des revendications 1 à 5, à l'état pur ou en présence de tout diluant ou adjuvant compatible et pharmaceutiquement acceptable.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No
PCT/FR 94/01006

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07K5/078 C07K7/06 A61K38/05 A61K38/08 C07K5/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	EP,A,0 614 910 (RHONE POULENC RORER SA) 14 September 1994 see the whole document	1-14
X	EP,A,0 506 561 (RHONE-POULENC RORER SA) 30 September 1992 cited in the application see claims; examples	11
X	BULLETIN DE LA SOCIETE CHIMIQUE DE FRANCE, vol. 2, 1968 PARIS FR, pages 585-591, J. PREUD'HOMME ET AL. 'Pristinamycine isolement, caractérisation et identification des constituants' cited in the application see page 585, left column, paragraph 1 - paragraph 4; tables III,IV,VI	1,2,11, 14

-/--

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

A document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 March 1995

Date of mailing of the international search report

2 3. 03. 95

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 3818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fuhr, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No
PCT/FR 94/01006

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR,A,2 619 008 (CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHES DERMATOLOGIQUES) 10 February 1989 cited in the application see claims; example 5 ----	1,2,14
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 110, no. 7, 13 February 1989 Columbus, Ohio, US; abstract no. 56082, N.K. SHARMA ET AL. 'Isolation of factor A (virginamycin M1) and factor B (mixture of VS1 and VS4) from a commercial fee additive formulation' page 551; column R; cited in the application see abstract & BULLETIN DES SOCIETES CHIMIQUES BELGES, vol. 97, no.3, 1988 OXFORD GB, pages 185-192, ----	1-10
X	WO,A,93 20182 (RHONE-POULENC RORER S.A.) 14 October 1993 see page 3, line 12 - line 29; claims 1,19 -----	1,11,14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 94/01006

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0614910	14-09-94	FR-A- 2701709	26-08-94
		AU-B- 5510094	25-08-94
		BE-A- 1006554	11-10-94
		CA-A- 2115807	18-08-94
		CZ-A- 9400326	14-09-94
		FI-A- 940717	18-08-94
		GB-A- 2275269	24-08-94
		GR-A- 94100078	31-10-94
		HU-A- 66821	30-01-95
		JP-A- 6298664	25-10-94
		LU-A- 88454	01-12-94
		NO-A- 940533	18-08-94
		PL-A- 302250	22-08-94
		PT-A- 101460	30-09-94
EP-A-0506561	30-09-92	FR-A- 2674539	02-10-92
		AU-A- 1552192	02-11-92
		EP-A- 0577705	12-01-94
		WO-A- 9217491	15-10-92
		JP-T- 6506350	21-07-94
FR-A-2619008	10-02-89	NONE	
WO-A-9320182	14-10-93	FR-A- 2689518	08-10-93
		AU-B- 3893493	08-11-93
		CA-A- 2131087	02-10-93
		EP-A- 0633928	18-01-95
		FI-A- 944563	30-09-94

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No
PCT/FR 94/01006

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 C07K5/078 C07K7/06

A61K38/05 A61K38/08 C07K5/06

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
E	EP,A,0 614 910 (RHONE POULENC RORER SA) 14 Septembre 1994 voir le document en entier ---	1-14
X	EP,A,0 506 561 (RHONE-POULENC RORER SA) 30 Septembre 1992 cité dans la demande voir revendications; exemples ---	11
X	BULLETIN DE LA SOCIETE CHIMIQUE DE FRANCE, vol. 2, 1968 PARIS FR, pages 585-591, J. PREUD'HOMME ET AL. 'Pristinamycine isolement, caractérisation et identification des constituants' cité dans la demande voir page 585, colonne de gauche, alinéa 1 - alinéa 4; tableaux III,IV,VI ---	1,2,11, 14

-/--

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

*** Catégories spéciales de documents cités:**

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

20 Mars 1995

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

23.03.95

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tél. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Fuhr, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demi Internationale No
PCT/FR 94/01006

C(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FR,A,2 619 008 (CENTRE INTERNATIONAL DE RECHERCHES DERMATOLOGIQUES) 10 Février 1989 cité dans la demande voir revendications; exemple 5 ---	1,2,14
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 110, no. 7, 13 Février 1989 Columbus, Ohio, US; abstract no. 56082, N.K. SHARMA ET AL. 'Isolation of factor A (virginamycin M1) and factor B (mixture of VS1 and VS4) from a commercial fee additive formulation' page 551; colonne R; cité dans la demande voir abrégé & BULLETIN DES SOCIETES CHIMIQUES BELGES, vol. 97, no.3, 1988 OXFORD GB, pages 185-192, ---	1-10
X	WO,A,93 20182 (RHONE-POULENC RORER S.A.) 14 Octobre 1993 voir page 3, ligne 12 - ligne 29; revendications 1,19 -----	1,11,14

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem. internationale No

PCT/FR 94/01006

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A-0614910	14-09-94	FR-A- 2701709	26-08-94
		AU-B- 5510094	25-08-94
		BE-A- 1006554	11-10-94
		CA-A- 2115807	18-08-94
		CZ-A- 9400326	14-09-94
		FI-A- 940717	18-08-94
		GB-A- 2275269	24-08-94
		GR-A- 94100078	31-10-94
		HU-A- 66821	30-01-95
		JP-A- 6298664	25-10-94
		LU-A- 88454	01-12-94
		NO-A- 940533	18-08-94
		PL-A- 302250	22-08-94
		PT-A- 101460	30-09-94
EP-A-0506561	30-09-92	FR-A- 2674539	02-10-92
		AU-A- 1552192	02-11-92
		EP-A- 0577705	12-01-94
		WO-A- 9217491	15-10-92
		JP-T- 6506350	21-07-94
FR-A-2619008	10-02-89	AUCUN	
WO-A-9320182	14-10-93	FR-A- 2689518	08-10-93
		AU-B- 3893493	08-11-93
		CA-A- 2131087	02-10-93
		EP-A- 0633928	18-01-95
		FI-A- 944563	30-09-94

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Applicant(s): BAMAS-JAQUES, et al.

Serial No.: 10/603,282

Filing Date: 6/25/2003

Docket No.: FRAV2002/0013 US NP

PRIOR ART